

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/002057

International filing date: 26 February 2005 (26.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 009 783.6
Filing date: 28 February 2004 (28.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 12 April 2005 (12.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

PCT/EP200 5 / 0 0 2 0 5 7

09.03.05



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

10 2004 009 783.6

Anmeldetag:

28. Februar 2004

Anmelder/Inhaber:

SUPRAMOL Parenteral Colloids GmbH,
61191 Rosbach/DE

Bezeichnung:

Hyperverzweigte Stärkefraktionen, Verfahren zu
ihrer Herstellung und ihre Konjugate mit pharma-
zeutischen Wirkstoffen

IPC:

C 08 B 30/12

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 21. Februar 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Wehner



Zusammenfassung

1. Hyperverzweigte Stärkefraktionen, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Konjugate mit pharmazeutischen Wirkstoffen.
- 2.1 Hyperverzweigte, vollständig metabolisierbare Stärkefraktionen zur Konjugation an pharmazeutische Wirkstoffe zur Verbesserung ihrer Pharmakokinetik und Herabsetzung von ihren Nebenwirkungen sind bislang nur durch aufwendige enzymatische Verfahren herzustellen.
Es soll ein neues Verfahren zur Herstellung niedermolekularer Fraktionen solcher Verbindungen gefunden werden, das einfacher und kostengünstiger ist als die bislang beschriebenen Verfahren.
- 2.2 Die Aufgabe wird dadurch gelöst, daß hyperverzweigte, niedermolekulare, vollständig metabolisierte Amylopektin-Abbaufractionen, die zur Kopplung an pharmazeutische Wirkstoffe geeignet sind, dadurch erhalten werden, daß man pflanzliches Amylopektin in einem ersten Schritt durch Säurehydrolyse oder α -Amylase-Abbau auf ein Molekulargewicht ≤ 60.000 Dalton abbaut und in einem nachgeschalteten zweiten Schritt die erhaltenen Fraktionen durch β -Amylase zu den Grenzdextrinen weiter abbaut.
- 2.3 Verbessertes Verfahren zur Herstellung vollständig metabolisierbarer, niedermolekularer Abbaufractionen des Amylopektins zur Kopplung an pharmazeutische Wirkstoffe.

Hyperverzweigte Stärkefraktionen, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Konjugate mit pharmazeutischen Wirkstoffen

Es ist bekannt, daß durch die Kopplung von hydrophilen Polymeren an Wirkstoffe, die parenteral appliziert werden, d.h. unter Umgehung des Magen-Darm-Traktes verabreicht werden, deren Nebenwirkungen reduziert werden können. Insbesondere können durch die Vergrößerung des Molekulargewichts dieser Wirkstoffe renale Nebenwirkungen reduziert oder sogar vermieden werden, wenn die Molekülgröße der Kopplungsprodukte über der Ausschlussgrenze der Niere, die wie ein Filter wirkt, liegt (Nierenschwelle). Die Molekülgröße des Konjugates wird dabei durch das passend ausgewählte Molekulargewicht des zu konjugierenden Polymers eingestellt.

Wirkstoffkonjugate mit hydrophilen Oligomeren- oder Polymeren können auch die Antigenizität von therapeutischen Proteinen herabsetzen und so die diesbezüglichen Nebenwirkungen reduzieren oder vermeiden.

Schließlich lassen sich durch die Konjugation von Wirksubstanzen mit Oligomeren oder Polymeren, die hydrophil sind, die pharmakokinetischen Halbwertszeiten, d.h. die Verweilzeiten der Kopplungsprodukte im Serum von Patienten, erheblich verlängern und so die Therapieintervalle der parenteralen Applikation erheblich ausdehnen. Oligomere oder Polymere Verbindungen, die zur Kopplung geeignet sind, sind vor allem Polyethylenglykole [Herman, S., et.al., Poly(Ethylene Glycol) with Reactive Endgroups: I. Modification of Proteins, Journal of Bioactive and Compatible Polymers, 10. (1995) 145-187] oder auch Stärkederivate bzw. Dextrane, die nach entsprechender Aktivierung an Wirkstoffe gekoppelt werden. Dabei können an sich bekannte chemische Verfahren zum Einsatz kommen, die schon aus der Technik der Immobilisierung von Liganden an Festphasen bekannt sind, oder aus der Chemie der Proteinkopplung bzw. Vernetzung. Entsprechende Verfahren sind beschrieben in G.T. Hermanson et. al., Immobilized Affinity Ligand Techniques, Academic Press Inc. (1992) bzw. in S.S. Wong, Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking, CRC Press LLC (1993) und C.P. Stowell et. al., Neoglycoproteins, the preparation and

application of synthetic Glycoproteins, In: Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Vol. 37 (1980), 225-281.

Insbesondere zu der Technik der Kopplung von Polyethylenglykol an pharmazeutische Wirkstoffe gibt es ein umfangreiches Literaturverzeichnis.

Während Polyethylenglykole nicht im Körper ohne weiteres metabolisierbar sind, sind Stärkederivate durch die körpereigene Serum- α -Amylase abbaubar.

Durch geeignete Substitution, z.B. mit Hydroxyethylgruppen kann dieser Abbau gezielt verzögert werden und eine maßgeschneiderte Kinetik der parenteral applizierbaren Wirkstoffkonjugate erreicht werden [K. Sommermeyer et. al., Krankenhauspharmazie, 8. Jahrg. Nr. 8, (1987)].

Nachteilig an der Derivatisierung mit Hydroxyethylstärke ist jedoch, daß bekanntlich sogenannte Speicherfraktionen existieren [P. Lawin, et. al., Hydroxyethylstärke, Eine aktuelle Übersicht, Georg Thieme Verlag (1989)] die aufgrund der regionalen hohen Substitutionsgrade an bestimmten Stellen der Kohlenhydratkette keinen vollständigen Abbau durch die Körperenzyme mehr zulassen.

In DE 102 17 994 A1 werden hyperverzweigte Polysaccharide zur Kopplung an Wirkstoffe beschrieben, die vollständig im Körper abbaubar sind und deren Abbau durch die Körperenzyme gleichzeitig gezielt steuerbar ist.

Die dort zitierten Verfahren zur Herstellung solcher Verbindungen sind relativ aufwändig und demzufolge teuer.

So beschreibt EP 13 694 32 A2 die Herstellung von an sich geeigneten, hochverzweigten Polysaccharid-Fractionen mit Molekulargewichten ≥ 30.000 Dalton und Verzweigungsgraden ≥ 10 mol-%. Bei der Herstellung werden mindestens zwei enzymatische Syntheseschritte beschrieben die komplementär sind.

Der erste Schritt besteht in der Erhöhung des Verzweigungsgrades von geeigneten Polysaccharid-Fractionen wie Stärke durch Umsetzung mit Verzweigungsenzymen.

Zur weiteren Erhöhung des Verzweigungsgrades wird dann in einem zweiten Schritt eine weitere enzymatische Nachbehandlung mit einem Enzym durchgeführt. Als hierbei geeignete Enzyme werden α -Amylase, β -Amylase oder Anhydroglucosidase eingesetzt.

Das beschriebene Verfahren in EP 13 694 32 A2 ist relativ aufwendig und teuer, insbesondere durch den Einsatz der kommerziell derzeit nicht erhältlichen Verzweigungsenzyme. Es bestand daher die Aufgabe, kostengünstige Herstellverfahren für hyperverzweigte Stärkefraktionen zu finden, insbesondere für solche Fraktionen mit Molekulargewichten zwischen 5.000 und 30.000 Dalton, die überwiegend interessant sind für die Kopplung an pharmazeutische Wirkstoffe.

Überraschenderweise haben wir nun gefunden, daß durch saure Hydrolyse abgebautes Amylopektin aus verschiedenen pflanzlichen Quellen, wie z. B. Wachsmaisstärke oder Tapiokastärke bis zu einem Molekulargewicht von ≤ 60.000 Dalton eine Anreicherung an α -1,6-glycosidischen Verzweigungsbindungen erfolgt, die beträchtlich ist.

So ergibt sich z. B. der Verzweigungsgrad einer durch saure Hydrolyse abgebauten Wachsmaisstärke bis auf das Molekulargewicht von 42.000 Dalton auf ca. 7 mol-%. Der Ausgangsverzweigungsgrad der eingesetzten Wachsmaisstärke betrug hingegen nur 4 mol-%.

Die Bestimmung der Verzweigungsgrade erfolgte durch ^1H NMR Spektroskopie.

Bei dem hydrolytischen Abbau mit Säure der gleichen Wachsmaisstärke auf ein Molekulargewicht von 10.000 Dalton wurde eine Erhöhung des Verzweigungsgrades sogar auf 10 mol-% gemessen.

Beim säurehydrolytischen Abbau einer nativen Tapiokastärke wurde ebenfalls ein Verzweigungsgrad von 10 mol-% einer 10.000 Dalton Abbaustärke gemessen.

Überraschenderweise führt der Abbau von Wachsmaisstärke mit α -Amylase anstatt durch Säurehydrolyse gemäß PCT/EP 02/08 757 nicht zu einer signifikant stärkeren Anreicherung des Verzweigungsgrades, wie das Beispiel aus o.g. Schrift belegt. So wird bei einem Molekulargewicht M_w von 8.000 Dalton ein Verzweigungsgrad von 11 mol-% erreicht.

Der enzymatische Abbauschritt der Ausgangswachsmaisstärke durch α -Amylase liefert deshalb gegenüber dem säurehydrolytischen Abbau keinen Vorteil, so daß der letztere besonders bevorzugt ist.

Die hydrolytisch hergestellten niedermolekularen Abbaufractionen können nun weiter selektiv abgereichert werden an α -1,4-glycosidischen Anhydroglucoseeinheiten durch eine weitere Behandlung mit β -Amylase, wobei die entsprechenden β -Grenzextrine entstehen.

Beim Abbau mit β -Amylase werden selektiv Maltoseeinheiten in den äußeren, nicht reduzierten Kettenenden abgespalten, ohne daß α -1,6 glycosidische Verzweigungen gelöst werden. Der Abbau geht dabei bei den äußeren Kettenenden bis auf etwa zwei Glucoseeinheiten vor dem ersten auftretenden Verzweigungspunkt.

So kann aus der oben angeführten säurehydrolytisch hergestellten Wachsmaisstärke-Fraktion mit einem Molekulargewicht von 42.000 Dalton durch die Behandlung mit β -Amylase ein Verzweigungsgrad von 14 mol-% erreicht werden. Gleichzeitig reduziert sich das Molekulargewicht auf 27.000 Dalton.

Wie Beispiel 2 zeigt, wird dieses hochverzweigte Polysaccharid nur verzögert durch α -Amylase abgebaut und ist deshalb geeignet zur Kopplung an pharmazeutische Wirkstoffe im Gegensatz zu Polysacchariden mit einem Verzweigungsgrad $< 10\%$, da letztere durch die Serum- α -Amylase innerhalb kürzester Zeit abgebaut würden und somit die entsprechenden Kopplungsprodukte mit pharmazeutischen Wirkstoffen pharmakokinetisch nicht sinnvoll wären.

Bei der durch Säurehydrolyse hergestellten Amylopektin-Fractionen vom Molekulargewicht 10.000 Dalton und einem Verzweigungsgrad von 10 mol-% wird durch den β -Amylase-Abbau ein Produkt mit einem Molekulargewicht von 7.000 Dalton und einem Verzweigungsgrad von 15 mol-% erreicht (Beispiel 4).

Beim β -Amylase-Abbau einer aus Tapiokastärke durch Säurehydrolyse hergestellten Fraktion mit dem Molekulargewicht 10.000 Dalton und einem Verzweigungsgrad von 10 mol-% wird sogar ein Verzweigungsgrad von 16 mol-% bei einem Molekulargewicht von 5.000 Dalton erreicht (Beispiel 6).

Aus diesen, in den Beispielen beschriebenen Fakten folgt, daß hochverzweigte Polysaccharid-Fractionen mit dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt werden können mit Molekulargewichten ≤ 30.000 Dalton und Verzweigungsgraden bis zu 16 mol-%, die geeignet sind zur Kopplung an pharmazeutische Wirkstoffe, da sie durch α -Amylase entsprechend langsam abgebaut werden.

Sofern der säurehydrolytische oder α -Amylase-Abbau noch weiter getrieben wird, sind sogar noch höhere Verzweigungsgrade möglich, allerdings nur für Molekulargewichtsfractionen die unterhalb von 5.000 Dalton liegen.

α - und β -Amylase sind kommerziell erhältliche, kostengünstige Enzyme. Aufgrund der einfach durchzuführenden Säurehydrolyse bzw. des α - oder β -amylolytischen Abbaus sowie der Reinigungsstufen über Ultrafiltration mit passenden Membranen, die ausgewählt sind entsprechend dem zu erreichenden Molekulargewicht des Endproduktes, ist das erfindungsgemäße Verfahren einfach und kostengünstig.

PCT WO 02/08 0979 A2, PCT/EP 02/06 764, PCT Wo 03/07 04088 A2, PCT WO 03/07 4087 A1, PCT/EP 03/13 622, DPA – 102 54 745.9 sowie PCT/EP 04/00 488 beschreiben Verfahren zur Kopplung von Hydroxyethylstärken an pharmazeutische Wirkstoffe, insbesondere therapeutische Proteine.

Die dort genannten Reaktionen sind vollständig auf die vorliegende Erfindung übertragbar, wie auch die Beispiele 11 und 12 zeigen.

Ebenso sind die in den genannten Schriften genannten Wirkstoffe vorteilhafter mit den erfindungsgemäßen, vollständig abbaubaren hochverzweigten Polysacchariden zu konjugieren anstatt mit den dort genannte Hydroxyalkylstärke-Fractionen. Letztere weisen den Nachteil der nicht vollständigen Metabolisierung auf infolge der Einführung von Hydroxyalkylgruppen in das Polysaccharidmolekül.

Beispiele

Beispiel 1

Herstellung einer Wachsmaisstärke Abbaufraktion < 60.000 Dalton durch Säurehydrolyse. 55 g dünnkochende Wachsmaisstärke werden in 1000 ml entionisiertem Wasser suspendiert und die Suspension unter Rückfluß zum Sieden gebracht. Dabei löst sich die Wachsmaisstärke vollständig auf. Nach dem Lösen wird der pH-Wert mit 1N HCl auf einen pH-Wert von 2,0 gebracht und der Ansatz eine Stunde im Rückfluß erhitzt.

Nach dem Abkühlen wird gegen entionisiertes Wasser mit einer Membran vom nominellen cut off von 5 kD ultrafiltriert und dabei niedermolekulare Abbauprodukte und die Salzsäure entfernt.

Die gereinigte Substanz wird durch Gefriertrocknung isoliert.

Die Ausbeute beträgt 60 %.

Die Charakterisierung der Substanz ergab ein Molekulargewicht M_w von 42.000 Dalton (über HPGPC) sowie einen Verzweigungsgrad von 7 mol-% (über ^1H NMR).

Beispiel 2

Herstellung des β -Grenzextrins aus der Stärke-Abbaufraktion nach Beispiel 1

10 g der Wachsmaisstärke-Abbaufraktion aus Beispiel 1 werden in 1000 ml 0,15 molarem Acetatpuffer pH 4,2 gelöst und mit 10 Einheiten/ml β -Amylase (Fa. Sigma; β -Amylase Type I-B from sweet potato, Art.-Nr. A7005) versetzt.

Der Ansatz wird bei 25 °C über 12 Stunden ausreagieren gelassen. Danach erfolgt die Inaktivierung des Enzyms durch Erhitzen des Ansatzes auf 100 °C für 10 Minuten.

Nach dem Abkühlen wird zur Entfernung des Enzyms der Ansatz mit ca. 2 Gew% Aktivkohle (bezogen auf das Substrat) zugegeben und abfiltriert. Nach Ultrafiltration zur Entfernung der Maltose und des Puffers wird bei einer Membran mit einem nominellen cut off von 1 kD das β -Grenzextrin durch Gefriertrocknung isoliert.

Ausbeute: 60 %.

Die Charakterisierung ergab einen Verzweigungsgrad von 14 mol-% (über ^1H NMR) sowie ein Mittleres Molekulargewicht m_w von 28.000 Dalton.

Beispiel 3

Herstellung einer Wachsmaisstärke-Abbaufraktion durch Säurehydrolyse mit einem Molekulargewicht ≤ 15 kD.

Die Durchführung erfolgt analog Beispiel 1, wobei die Hydrolysezeit auf ca. 4 Stunden verlängert wird. Der genaue Endpunkt der Hydrolyse wird durch Inprozess-HPGPC festgelegt. Die Ultrafiltrations-Reinigung erfolgt über eine Membran mit einem nominellen cut off von 1 kD.

Die Ausbeute betrug 25 %.

Die Charakterisierung der Substanz ergab ein Mw von 10.000 Dalton sowie einen Verzweigungsgrad von 10,3 mol-% (über ^1H NMR).

Beispiel 4

Herstellung eines β -Genzdextrins aus der Abbaufraktion nach Beispiel 3.

Die Herstellung erfolgt analog Beispiel 2.

Die Ausbeute betrug 60 %.

Die Charakterisierung der Substanz ergab einen Verzweigungsgrad von 15 mol-% (über ^1H NMR) sowie ein mittleres Molekulargewicht Mw von 7.000 Dalton.

Beispiel 5

Herstellung einer Tapioka-Abbaustärke durch Säurehydrolyse mit einem Molekulargewicht < 15.000 Dalton.

55 g native Tapioka-Stärke werden in 1000 ml entionisiertem Wasser in der Hitze unter Rückfluß verkleistert.

Danach werden 11 ml 1 N HCl zur Einstellung eines pH-Wertes von ca. 1,9 zugegeben.

Nach ca. 30 Minuten wird das Gel dünnflüssig und der Ansatz anschließend 7 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen wird von Niederschlag und Trübung abfiltriert und gegen entionisiertes Wasser ultrafiltriert mit einer Membran des nominellen cut off's von 1.000 Dalton.

Die Ausbeute war 24,4 %.

Die Charakterisierung der Substanz ergab einen Verzweigungsgrad von 9,6 mol-% (über ^1H NMR) sowie ein Molekulargewicht M_w von 10.000 Dalton.

Beispiel 6

Herstellung eines Grenzdextrins aus der Substanz nach Beispiel 5

Die Herstellung erfolgt analog Beispiel 2.

Die Ausbeute betrug 55 %, was einem Grenzdextrin von 45 % entspricht.

Der gemessene Verzweigungsgrad (über ^1H NMR) betrug 16 mol-%, das Molekulargewicht M_w 5.000 Dalton (über HPGPC).

Beispiel 7

α -Amylase-Abbau der hochverzweigten Polysaccharid-Fraktion aus Beispiel 2.

Die Wachsmailsstärke-Abbaufraktion aus Beispiel 2 wird in isotonem Phosphatpuffer pH 7,2 zu 1 % aufgelöst. Die Lösung wird auf 37,0 °C gebracht und 0,5 I.E./ml α -Amylase aus Schweinepancreas (Fa. Roche; AS, Art.-Nr. 102 814) zugegeben.

Nach jeweils 1 und 3 Stunden werden Proben entnommen, das Enzym durch Hitze inaktiviert und das Molekulargewicht der verbleibenden höhermolekularen Fraktion durch HPGPC bestimmt.

Es wurden folgende Werte gemessen:

Ausgangs-Molekulargewicht (0 Stunden-Wert): 28.000 Dalton

Molekulargewicht nach 1 Stunde: 11.000 Dalton

Molekulargewicht nach 3 Stunden: 7.000 Dalton

Beispiel 8

α -Amylase-Abbau der hochverzweigten Polysaccharid-Fraktion aus Beispiel 4.

Der in vitro α -Amylase-Abbau-Versuch erfolgt wie in Beispiel 7.

Es ergaben sich folgende Molekulargewichte:

Ausgangs-Molekulargewicht (0 Stunden-Wert): 7.000 Dalton

Molekulargewicht nach 1 Stunde: 5.500 Dalton

Molekulargewicht nach 3 Stunden: 4.600 Dalton

Beispiel 9

In vitro Abbau-Versuch mit α -Amylase eines handelsüblichen Plasmaexpanders (Hydroxyethylstärke 130/0,4 – im Handel als "Voluven").

Der Versuch wurde analog Beispiel 7 durchgeführt.

Die gemessenen Molekulargewichte M_w betrugen:

Ausgangs-Molekulargewicht (0 Stunden-Wert): 140.200 Dalton

Molekulargewicht nach 1 Stunde: 54.700 Dalton

Molekulargewicht nach 3 Stunden: 33.700 Dalton

Die Abbaugeschwindigkeit des handelsüblichen Plasmaexpanders auf Hydroxyethylstärke ist dem Versuch zufolge vergleichbar mit der Abbaugeschwindigkeit der hochverzweigten Polysaccharid-Fractionen aus den Beispielen 7 und 8, wobei infolge des höheren Verzweigungsgrades die Substanz aus Beispiel 8 etwas langsamer abgebaut wird als die aus Beispiel 7.

Beispiel 10

Oxidation der hochverzweigten Abbaustärke aus Beispiel 4 an der reduzierenden Endgruppe zur Aldonsäure.

Aus der nach Beispiel 4 hergestellten hochverzweigten Abbau-Stärke-Fraktion wird eine 25 %-ige Lösung in entionisiertem Wasser hergestellt.

Zur Lösung wird ein 3,5-facher molarer Überschuß (bezogen auf die reduzierende Endgruppe) einer 0,05 molaren Iodlösung portionsweise langsam zugegeben und jeweils mit 0,1 N NaOH (3-fach molare Menge bezogen auf Iod) portionsweise entfernt.

Nach der Zugabe wird über Nacht bei Raumtemperatur weiter reagieren lassen und die Lösung anschließend dialysiert mit einer Membran des nominellen cut off's 1 kD, wobei der pH-Wert kontrolliert wird.

Nach Erreichen eines pH-Wertes von ca. 6 im Dialysat und Überprüfung auf Iodidfreiheit durch Zusetzen von Natriumiodat und Ansäuern wird der Ansatz mit 0,1 N HCl auf pH 2,5 eingestellt und solange weiter dialysiert bis das Ultrafiltrat pH 5 aufweist.

Das Produkt wird durch Gefriertrocknung isoliert.

Ausbeute: 80 % der Theorie

Oxidationsgrad < 90 % (bestimmt über die reduzierende Endgruppe).

Beispiel 11

Umsatz der Aldonsäure aus Beispiel 10 mit bovinem Serumalbumin (BSA).

66 mg Aldonsäure aus Beispiel 10 werden in 0,5 ml DMF (trocken) gelöst und mit 3,4 mg NN'-Disuccinimidylcarbonat versetzt und 2 Stunden bei Raumtemperatur ausreagieren gelassen.

0,5 ml einer 1%-igen BSA-Lösung werden mit 180 ml einer 1 molaren Bicarbonatlösung versetzt und anschließend 2 Portionen von jeweils 100 µl der aktivierten Aldonsäure tropfenweise der BSA-Lösung zugefügt und jeweils eine halbe Stunde ausreagieren gelassen.

Danach wird der Ansatz mit Salzsäure auf pH 7,4 eingestellt.

Die Untersuchung der Reaktionslösung mittels HPGPC ergab eine Ausbeute an Kopplungsprodukt von > 95 % des eingesetzten BSA's.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von hochverzweigten Stärke-Polysaccharid-Fractionen, dadurch gekennzeichnet, daß
 - in einem ersten Schritt pflanzliche Amylopektine oder amylopektinreiche Stärke säurehydrolytisch oder durch α -Amylase Abbau auf Molekulargewichte ≤ 60.000 Dalton abgebaut werden und anschließend von niedermolekularen Verunreinigungen durch Ultrafiltration gereinigt werden und
 - in einem zweiten Schritt die aus Schritt 1 erhaltenen Produkte einem β -Amylase-Abbau zur Herstellung der entsprechenden Grenzdextrine unterworfen werden und danach von Maltose durch Ultrafiltration gereinigt werden.
2. Hochverzweigte Stärke-Polysaccharid-Fractionen gemäß Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß
 - der Verzweigungsgrad α -1,6-glycosidischer Glucoseeinheiten zwischen 10 und 20 mol-% beträgt und
 - das Molekulargewicht M_w zwischen 2.000 und 29.000 Dalton beträgt.
3. Konjugationsprodukte von hochverzweigten Stärke-Polysaccharid-Fractionen gemäß Ansprüchen 1. und 2. mit pharmazeutischen Wirkstoffen.